



TITLE:

Development of a Method for Detection of Shigatoxin-Producing Escherichia coli Belonging to Clinically Important Twelve O Serotypes Based on the Combination of PickPen-Assisted Immunomagnetic Separation and Loop-Mediated Isothermal Amplification ...

AUTHOR(S):

Ahmad, Yaman Kayali

---

CITATION:

Ahmad, Yaman Kayali. Development of a Method for Detection of Shigatoxin-Producing Escherichia coli Belonging to Clinically Important Twelve O Serotypes Based on the Combination of PickPen-Assisted Immunomagnetic Separation and Loop-Mediated Iso ...

ISSUE DATE:

2015-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k18898>

RIGHT:

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	Ahmad Yaman Kayali
論文題目	Development of a Method for Detection of Shigatoxin-Producing <i>Escherichia coli</i> Belonging to Clinically Important Twelve O Serotypes Based on the Combination of PickPen-Assisted Immunomagnetic Separation and Loop-Mediated Isothermal Amplification (ピックペンを用いた免疫磁気ビーズ分離法およびLAMP法に基づく臨床的に重要な12種類のO抗原型に属する志賀毒素産生性大腸菌検査法の開発)		
(論文内容の要旨)			
<p>志賀毒素産生性大腸菌（STEC）の中で O157 血清型のみならず、それ以外の O 血清型（non-O157）に属する STEC の一部は、臨床的に O157 型と同様に重要であり、重要な食中毒の原因菌として取り扱うべきであるとして最近世界的に注目されるようになってきた。</p> <p>本研究では、このような臨床的に重要な STEC （O157 およびそれ以外の特定の O 血清型に属し、志賀毒素遺伝子 [<i>stx</i>] を保有する大腸菌）を市販牛肉から検出するために、感度および特異性が高く、さらに財源の乏しい国でも実施可能な簡便法を考案し、その重要なステップのプロトコールに微調整を行って新方法を開発した。本法の特徴は、O157 およびそれ以外（non-O157）の 11 種類の O 血清型に属する STEC を同時に特異的にスクリーニングするための PickPen 装置を導入した免疫磁気ビーズ(IMS) 法と <i>stx</i> 遺伝子 の存在を簡単に確認できる LAMP（loop-mediated isothermal amplification）法を併用している点である。保存菌株を用いて実施した評価試験の結果、IMS 法の感度は 91 CFU/ml であり、IMS 法と LAMP 法を併用した場合、<i>stx</i> 遺伝子を検出できる特異性は 100%であった。</p> <p>タイ国および日本で市販牛肉を購入し、本法を用いてプロトコールにしたがって増菌培養液を処理し、検査したところ、それぞれの国で 74 検体中 41 検体（55.4%）、 28 検体中 0 検体（0%）が <i>stx</i> 遺伝子陽性であることが示された。さらにこれらの増菌培養液から STEC を分離し、分離菌の性状を解析した結果、本法は高感度でかつ特異性が高い（80-100 %）ことが確認でき、また検査対象国の検査対象菌による汚染度の差が明確に示された。したがって、本研究において開発・微調整した IMS-LAMP 法に基づく検査法は、牛肉中の標的菌（O157 およびそれ以外の 11 種類の O 血清型に属する STEC）の検査に適していると言える。</p>			

<p>(論文審査の結果の要旨)</p> <p>志賀毒素産生性大腸菌（STEC）の中でO157型以外のO血清型に属するSTECの一部は、臨床的にO157型と同様に重要な食中毒原因菌であるとして最近世界的に注目されている。</p> <p>本研究では、このようなO血清型に属するSTECを市販牛肉から検出するために、感度と特異度が高く、発展途上国でも実施可能な簡便法を開発した。本法は、12種類のO血清型に属するSTECを同時に特異的にスクリーニングするためのPickPen装置を導入した免疫磁気ビーズ(IMS)法と<i>stx</i>遺伝子の存在を簡単・高感度に確認できるLAMP法を併用している。In vitro 評価試験の結果、IMS法の感度は91 CFU/mlであり、IMS法とLAMP法を併用した場合、<i>stx</i>遺伝子検出の特異度は100%であった。</p> <p>タイ国および日本で市販牛肉を購入し、本法を用いて検査したところ、タイ国で74検体中41検体、日本では28検体中0検体が<i>stx</i>遺伝子陽性であった。さらにSTECを分離しO血清型を解析した結果、本法は高感度でかつ特異度が高い（80-100 %）ことが確認でき、また検査対象国の間の汚染度の差が明確に示された。したがって本検査法は、牛肉中の標的菌の検査に適していると言える。</p> <p>以上の研究は世界的に重要な食中毒菌による食品汚染の実態の解明に貢献し腸管感染症の疫学および病原細菌の遺伝学と免疫学に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成 27 年 2 月 23 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>			
要旨公開可能日： 年 月 日以降			